# 中国穿山甲有丝分裂染色体和减数分裂联会复合体(SC)的研究

陈 佺　刘瑞清　王应祥　施立明
（中国科学院昆明动物研究所）

**摘　　要**

中国穿山甲（*Manis pentadactyla*）的细胞遗传学分析表明，染色体数目 2n＝40。除着丝粒C带外，还有染色体端部C带和插入性C带。两对小的端着丝粒染色体的随体部位有银染核仁组织者（Ag-NORs）。本文对穿山甲核型的多态性以及减数分裂联会复合体的结构，性染色体（X、Y）在减数分裂前期的行为进行了分析和讨论。

**关键词**：穿山甲，核型，联会复合体，核型进化

中国穿山甲（*M. pentadactyla*）分布于中国南部、越南、老挝、缅甸、印度东北部、锡金和尼泊尔等地（Elleman等，1951；Corbet等，1986）。不同地区的中国穿山甲的细胞遗传学研究已有报道。染色体数目有明显的不同，分别为2n＝42，2n＝38，2n＝36。本文对5只产自云南的中国穿山甲作了进一步的细胞遗传学及其联会复合体（SC）分析，染色体数目与以前报道的不同，2n＝40。

## 材 料 和 方 法

中国穿山甲，雌性3只，雄性2只，捕自云南。以骨髓细胞体外短期培养制作有丝分裂染色体标本。动物股骨的骨髓细胞用含15％小牛血清的TC199（日本制药株式会社）培养液，35°C培养4小时，加秋水仙素（最终浓度为0.05 μg/ml）继续培养1小时。0.4％KCl低渗处理25分钟，甲醇：冰醋酸（3：1）预固定，然后按常规空气干燥制片，Giemsa染色。

按Sumner（1972）方法显示C带，按Seabright（1971）方法显示胰酶-Giemsa带，按Howell等（1980）方法显示银染核仁组织者（Ag-NORs）。

* 本工作得到实验室马昆、马彩霞、扬凤堂、陈玉泽、刘德胜等同志的大力支持，在此表示感谢。
本文得到中国科学院重大项目——野生动物细胞库的建立及应用课题资助。
本文1989年8月23日收到，同年12月9日修回。

联会复合体（SC）标本制作参照莫兵等（1989）的去污剂方法。简述如下：少许睾丸细胞悬液滴于预先涂有0.7%Falcon塑料的载玻片上，加适量的0.05%或0.2%洗衣粉（龙门牌，昆明合成洗涤剂厂出品）处理3—7分钟，然后滴加适量的4%多聚甲醛固定液固定。烘干。蒸馏水（pH8.2—8.9）清洗。50%硝酸银染色，脱膜，在光镜下置单孔铜网。Hitachi-300电镜观察，电压75KV。

## 结　　果

根据5只穿山甲340个中期相的计数，染色体众数确定为2n＝40（表1）。常染色体臂数NF＝70。核型中Nos．1—5为中着丝粒染色体(M)，Nos．6—13为亚中着丝粒染色体(Sm)，Nos．14—16为亚端着丝粒染色体(St)，Nos．17—19为端着丝粒染色体（T）。Nos．18，19染色体各有一个随体。X染色体为中等大小的亚中着丝粒染色体，Y为最小的亚中着丝粒染色体。常见两微小染色体的随体相互连接。

有关中国穿山甲染色体数目曾有过不同的报道（表2）。

**表1　中国穿山甲的染色体数目分布**
**Tab. 1. Distribution of chromosome number of *M. pentadactyla***

| 个体编号 ＼ 性别 ＼ 染色体数目 | | <38 | 38 | 39 | 40 | >40 | 统计总数（N） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | ♂ | 5 | 4 | 7 | 134 | 0 | 150 |
| 2 | ♂ | 2 | 1 | 3 | 24 | 0 | 30 |
| 3 | ♀ | 0 | 1 | 7 | 92 | 0 | 100 |
| 4 | ♀ | 1 | 2 | 2 | 25 | 0 | 30 |
| 5 | ♀ | 1 | 0 | 2 | 27 | 0 | 30 |

**表2　有关中国穿山甲染色体数目的不同报道**
**Tab. 2. Reports on the chromosome number of *M. pentadactyla***

| 产　地 | 动物数 | 组织来源 | 染色体数目 | 文　献 |
|---|---|---|---|---|
| 日　本？ | 1 | 睾　丸 | 42 | Makino等，1951 |
| 印　度 | 1 | 骨　髓 | 36 | Ray-Chaudhuri等，1969 |
| 印　度 | 1 | 骨　髓 | 36 | Satya-Prakash等，1972 |
| 中国贵州 | 1 | 骨髓、外周血 | 38 | 全国强等，1984 |
| 中国云南 | 1 | 睾　丸 | 38 | 冯蜀举等，1983 |
| 中国云南 | 1 | 骨髓、睾丸 | 40 | 本　文，1989 |

Makino等（1951）（见Ray-chaudhuri等，1969）以压片法得到的结果没有被进一步证实。其他作者报道的染色体数目差异或者染色体数目的多态性主要涉及端着丝粒染色体数目的不同。来自印度的穿山甲（*M. pentadatyla*）只具有1对端着丝粒染色体（Ray-Chaudhuri等，1969；Satya-Prakashi等，1972）；而冯蜀举等（1983），全国强等（1984）报道的穿山甲（*M. pentadactyla*）具2对端着丝粒染色体。我们观察的5只穿山甲（*M. pentadactyla*）核型中包括了3对端着丝粒染色体。

我们的结果还表明，穿山甲染色体C带的分布十分复杂而多样，有其独特的特征(图版Ⅰ：C)。如Nos．1，6染色体着丝粒C带小，染色很淡。No．2染色体着丝粒及两臂大部都为C带阳性，Nos．3，4，7，15等染色体端部有明显的C带阳性。此外，No.15染色体还具显著的着丝粒C带和插入性C带。X染色体两端均呈C带阳性，Y染色体为深染的异染色质成分。这些结果同冯蜀举等（1983）报道的相似，但他认为X染色体的长臂的大部也为异染色质成分的结论则未能得到证实。G带核型见图版Ⅰ：B，因资料

的限制，未能对来自不同地区的穿山甲G带带纹作详细的比较分析。

此外，在中国穿山甲核型中，Ag-NORs数目为3—4个（表3）。位于Nos. 18，19两对小染色体随体部位(图版Ⅰ：D，a，箭头示)。两条同源染色体的Ag-NORs的大小可以不同，呈明显的多态性。已知Ag-NORs是有转录活性的18s＋28srRNA基因的位置，Ag-NORs数目和大小的不同取决于该基因的活性或基因拷贝数目的不同。我们还发现，Ag-NORs联合的频率相当高，联合有时也相当紧密，以致嗜银粒大小成倍增大(图版Ⅰ：D，b，箭头示)。有时还可见在一个分裂相中，4个具Ag-NORs的小染色体两两相互连接，成玫瑰花状。Ag-NORs联合现象也见于其它动物，其形成机制和生物学意义尚不很清楚。

**表3　中国穿山甲染色体Ag-NORs数目观察**

Tab. 3. Number of chromosome with Ag-NORs observed in *M. pentadactyla*

| 观察细胞数 | 带Ag-NORs染色体数 | | 联合出现频率 |
|---|---|---|---|
| | 3 | 4 | |
| 50 | 28 | 22 | 24/50 |

精母细胞的联会复合体核型（见图版Ⅱ：A）清楚地显示19条常染色体SC和XY，Nos. 18，19各同一个核仁相连接，这和有丝分裂染色体随体和Ag-NORs位置相一致。从图版Ⅱ：B中可看出，在减数分裂前期，X，Y配对有复杂而独特的行为。X，Y配对可由端部起始，有时可见X轴上有一个自身折叠(图版Ⅱ：B，a箭头示)。X轴附有大小不等的突起物（图版Ⅱ：B，b，c）。X、Y可大部或完全配对（图版Ⅱ：B，d，e，f），其端部也可相互连接成环状（图版Ⅱ：B，c）。

已知X、Y的联会行为和常染色体联会不同，起始于早粗线期，比常染色体推迟，但分离提前。关于X、Y配对的性质，有着不同的观点。有人认为X、Y配对只有有限的同源性（Miller等，1984；Burgoyne，1982）。也有资料证明，X、Y之间的联会是非同源的（Ashley，1984，1987）。在穿山甲精母细胞的早粗线期，X、Y配对时可出现环突，这可能意味着X、Y上有非同源片段，但随着联会进入中晚粗线期，由于联会调整机制，这种非同源配对而形成的环突消失，形成外观正常的配对。这种现象也见于同源染色体（Moses等，1982）。

## 讨　　论

综合冯蜀举等（1983）、Ray-Chaudhuri等(1969)、Satya-Prakash等（1972）和本文资料，我们可以对穿山甲染色体多态性或和核型进化的途径作如下推测(图1)：在2n＝40（本文报道）核型中，如果一对带Ag-NORs的端着丝粒染色体（假定为No.19）的远端易位至最小的一对亚中着丝粒染色体短臂（假定为No.13）上，形成一对端部带Ag-NORs的中着丝粒染色体（No. 13＋19），这样，染色体数目就从2n＝40降至2n＝38（全国强等，1984；冯蜀举，1983）。在2n＝38核型中，如果另一对带Ag-NORs的端着丝粒染色体(假定为No. 18)易位至另一对较小的亚中着丝粒染色体(假定为No. 10)，就将出现另一对中着丝粒染色体（No. 10＋18）），染色体数目就将从2n＝38进一步降至2n＝36（Ray-Chaudhuri等，1969；Satya-Prakash等，1972）。上述推测主要依据染

色体的相对大小，着丝粒位置和Ag-NORs的分布资料。由于资料的限制，我们未能就不同地区穿山甲G带带纹的比较来论证上述假定的可靠性。

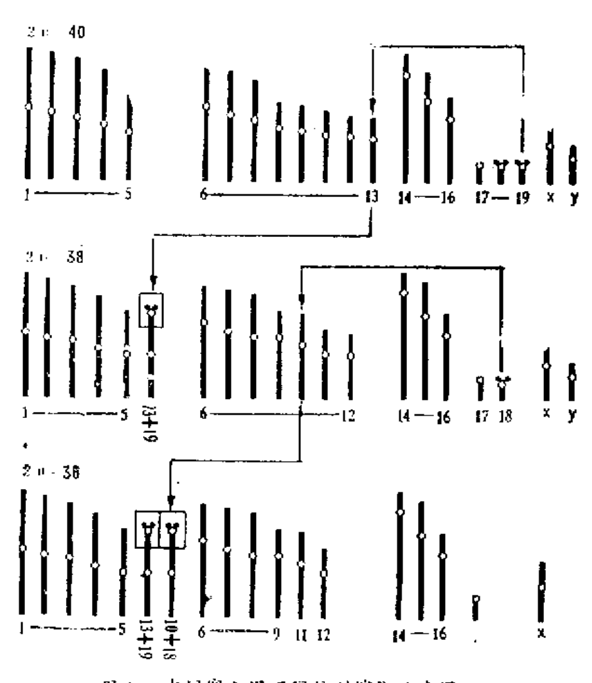



图1 中国穿山甲不同核型演化示意图
Fig. 1. Idiogramatic representations of the karyotypic evolution of *M. pentadactyla*

如果我们接受上述假说，则可以发现穿山甲核型演化途径或机制不是哺乳动物核型演化中常见的罗伯逊易位，而是一种特定的串联易位，即染色体端部—端部(T—T)的易位。由此还可以得出另一个推论：2n=38核型中的No. 13+19染色体，还有2n=36核型的No. 10+18，除中部具有一个着丝粒外，在其带Ag-NORs位置下面，在其结构上还应有另一个着丝粒，但在功能上可能失活。当然，这个推论还有待应用抗着丝点血清或着丝粒DNA探针来进一步验证。

如接受上述的核型演化途径和可能的串联易位机制，还可以得出另一个推论即2n=40的核型是比较原始的，2n=36则比较进化。或者说，核型进化的方向不太可能是从2n=36通过No. 10+18染色体的断裂，演化为2n=38，通过2n=38核型中的No. 13+19染色体断裂，再进一步演化为2n=40的核型。因为很难设想在进化过程中，No. 10+18、No. 13+19染色体原先就已具有潜伏的双着丝粒结构，因而断裂产物就自然稳定地传递、保留。当然，也很难设想No. 10+18、No. 13+19染色体虽无潜伏的两个着丝粒其断裂产物不会成为无着丝粒断片，而是突然获得一个有功能的新的着丝粒结构。

总之，深入研究穿山甲核型的一系列特征，如C带多样性，核型的多态性无疑是一个很有吸引力的课题。研究更多的个体，特别是不同亚种的个体，采用更完善的分带手段，特别是分子细胞遗传学方法，可能会进一步增加我们对哺乳动物核型的多态性和核型进化的了解。

# 图 版 说 明

Plate. I

A. Conventional karyotype of *M. pentadactyla*

B. G-banded karyotype

C. C-handed karyotype

D. a: Silver stained metaphase, showing Ag-NORs (arrows)

b: Partial metaphase, showing Ag-NORs association (arrow)

Plate. II

A. SC karyotype

B. Various morphology of X Y pairing in meiotic synapsis

a: initiation of X Y pairing

b, c: X Y pairing with loops along the axes

d, e, f: Partial or complete pairing between X and Y

# 参 考 文 献


全国强等　1984　穿山甲 (*M. pentadactyla aurita*) 的核型分析。兽类学报　**14**:89—92。

冯蜀举等　1983　Studies on the chromosomes of Chinese pangolin, *Manis pentadactyla aurita* Hodgson (pholidota-mammalia). *MCN* **24**:203—206.

莫兵等　1989　玉米 (*Zea mays*) 联合复合体的电镜观察　遗传学报　17(2):81—85。

Ashley, T. 1984 A re-examination of the case for homology between the X and Y chromosome of mouse and man. *Hum. Genet.*, **67**:372—377.

Ashley, T. 1987 Meiotic behavior of sex chromosomes: what is normal? *Chromosomes Today*, **9**:184—195.

Burgoyne P. S. 1982 Genetic homology and crossing over in the X and Y chromosome of mammals. *Hum. Genet.*, **61**:85—90.

Corbet G. B. *et al.* 1986 A world list of mammalian species Second edition, pp144 London.

Ellerman, J. R. *et al.* 1951 Check list of palaearctic and Indian mammals. pp214.

Howell. W. M. *et al.* 1980 Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experimentia*, **36**:1014—1015.

Miller, O. J. *et al.* 1984 Report of the committee on the genetic constitution of the X Y chromosome. *Cytogenet. Cell Genet.*, **37**:176—204.

Moses M. J. *et al.* 1982 Synaptonemal complex analysis of mouse chromosomal rearrangements. *Chromosoma* (Berl), **84**:457—474.

Ray-Chaudhuri S. P. *et al.* 1969 Chromosomes and karyotype of the pangolin, *Manis pentadactyla* L (pholidota-Mammalia). *Experientia*, **25**:1167—1168.

Satya Prakash K. L. *et al.* 1972 Karyotype of the femal pangolin, *Manis pentadactyla* Linn (pholidota). *MCN* **13**:142—143.

Seabright. L. A. 1971 A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* **11**:971—972.

Sumner, A. T. 1972 A simple technique for demonstrating centrimeric heterochromatin, *Exp. Cell Res*, **75**:304—306,

# STUDIES ON THE MITOTIC CHROMOSOMES AND MEIOTIC SYNAPTONEMAL COMPLEXES (SC) OF CHINESE PANGOLIN (*Manis pentadactyla*)

Chen Quan Liu Ruiqing Wang Yingxiang Shi Liming

*(Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)*

A new karyotype of Chinese pangolin (*Manis pentadactyla*) was studied by C-banding, silver staining and analysis of synaptonemal complexes of spermatocytes. The karyotype reported in this paper is characterized by a diploid chromosome number of 40, with constitutive heterochromatin on centrimeric, distal and interstitial regions of chromosomes. Ag-NORs, with different activities in cells, were found to be located on chromosomes 18 and 19 respectively. Observations on synaptonemal complex show that the pairing between some areas on X chromosome and Y chromosome, forming loops along the X. Y axes, is later than others, which may imply the existence of nonhomologous pairing and synaptic adjustment in the pairing of sex chromosome of Chinese pangolin.

Based on the comparative studies of on karyotype of the same species in literature and our observations on chromosomes of Chinese pagolin (*M. pentadactyla*), the chromosome polymorphism and possibile mechanism of the karyotypic evolution of *M. pentadactyla* are also discussed.

**Key words:** Pangolin, Karyotype, Synaptonemal complex, Karyotypic evolution

A. Conventional karyotype of *M. pentadactyla*



B. G–banded karyotype



C. C–banded karyotype



D. a: Silver stained metaphase, showing Ag–NORs (arrows) b: Ag–NORs association(arrow)

陈佺等：中国穿山甲（*Manis pentadactyla*）有丝分裂染色体和减数分裂联会复合体(SC)的研究

Chen Quan *et al*.: Studies on the mitotic chromosomes and meiotic synaptonemal complex (SC) of Chinese pangolin (*Manis pentadactyla*) 图版Ⅱ

1———5 x y

6———13

14———16 17———19

A. SC karyotype




B. Various morphology of X Y pairing in meiotic synapsis

a: initiation of X Y pairing b, c: X Y pairing with loops along the axes

d, e, f: Partial or complete pairing between X and Y